

Nrf2はマウス門脈枝結紮後の代償的肝肥大を促進する

著者	白崎 圭一
号	83
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3242号
URL	http://hdl.handle.net/10097/57969

氏 名	しらさき けいいち 白崎 圭一
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 26 年 3 月 26 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学 位 論 文 題 目	Nrf2 はマウス門脈枝結紮後の代償的肝肥大を促進する
論 文 審 査 委 員	主査 教授 海野 倫明 教授 山本 雅之 教授 中山 啓子 教授 後藤 昌史

論 文 内 容 要 旨

原発性および転移性肝癌の罹患者は増加の一途をたどっている。肝癌治療の成績は切除手術により向上しているが、大量の肝切除は肝不全死などの合併症を引き起こし、在院死の主因となる。そこで、大量の肝切除が予定される場合に、術後の肝不全予防を目的として門脈塞栓術 (PE) が施行される。PE は切除予定の肝葉に流入する門脈の分枝を選択的に塞栓する手技である。PE 後 2・3 週間で塞栓肝が萎縮し、代償的に非塞栓肝が肥大することで肝不全のリスクが低下する。PE に関するこれまでの解析は機能的、形態的な組織変化に留まり、非塞栓肝が肥大する分子機構は明らかではない。Nrf2 は細胞内における酸化還元バランスを司る転写因子である。これまで知られていた生体防御としての機能に加え、最近では Nrf2 が細胞増殖の亢進や、肝切除後の肝再生にも重要な役割を担うことが報告されている。そこで、PE 後の非塞栓肝の肥大に Nrf2 が関与するのではないかと考えた。本研究では、PE の代替モデルとしてマウスに門脈枝結紮術 (PBL) を施行して、非結紮葉の肥大における Nrf2 の役割を明らかとすることを目的とした。具体的には、Nrf2 欠失 (Nrf2-KO) マウス、Nrf2 が活性化した肝臓特異的 Keap1 欠失 (Keap1-CKO) マウス、および野生型マウスとそれぞれ Nrf2 の活性化状態が異なる 3 種のマウスを利用した。すべての遺伝子型マウスの非結紮葉は時間経過とともに有意に肥大した。特に、Keap1-CKO マウスで著明な非結紮葉の肥大を認めた。細胞増殖マーカーである Ki67 免疫染色では、PBL3 日目の Keap1-CKO および野生型マウスの非結紮葉で同程度の増殖像を認めた。PBL7 日目において、野生型マウスの増殖は収束したのに対して、Keap1-CKO マウスの増殖は維持されていた。Ki67 の遺伝子発現は、PBL3 日目で Keap1-CKO マウスの非結紮葉では野生型マウスより有意に上昇し、その傾向は PBL7 日目まで継続した。これらの結果より、Nrf2 の活性化が非結紮葉の細胞増殖に有利に働くことが示された。PBL は増殖シグナルである PI3K-Akt 経路を軽度活性化させた。Akt の下流因子である Gsk3 のリン酸化は Keap1-CKO マウスの非結紮葉で野生型マウスに対して PBL1 日目で特に強く、PBL3 日目および 7 日目でも上昇傾向を認めた。Keap1-CKO マウスでは、Nrf2 の核蓄積が Gsk3 のリン酸化の結果と一致していた。Gsk3 のリン酸化は Nrf2 の分解を回避して Nrf2 を活性化させることが報告されている。Nrf2 の代表的な標的遺伝子である Nqo1 の発現も、Keap1-CKO および野生型マウスの PBL3 日目および 7 日目の非結紮葉で結紮葉に対して有意に上昇した。これらの結果より、特に Keap1-CKO マウスにおいて、活性化した増殖シグナル下で Nrf2 の活性化が増強して細胞増殖が亢進することが示された。最後に、Nrf2 誘導剤である CDDO-Im を用いて、Nrf2 の活性化が PBL による非結紮葉の肥大を促進することを検証した。野生型マウスの PBL 群では、CDDO-Im

(書式 1 2)

により非結紮葉の肥大が有意に促進したが、**Nrf2-KO** マウスでは、**CDDO-Im** の効果は認めなかった。よって、**CDDO-Im** は **Nrf2** 依存的に非結紮葉の肥大を促進することが示された。本研究により、**Nrf2** の活性化は PBL 後の非結紮葉の代償的肝肥大を促進することを明らかとした。**PE** の効果を増強する目的で **Nrf2** 誘導剤を使用することで、肝切除後の合併症が減少し、また、肝切除術の適応範囲が拡大する可能性が期待できる。

審査結果の要旨

博士論文題目 Nrf2 はマウス門脈枝結紮後の代償的肝肥大を促進する

所属専攻・分野名 医科学専攻 消化器外科学 分野

氏名 白崎 圭一

原発性および転移性肝癌の罹患者は増加の一途をたどっており、肝癌治療の成績は切除手術により向上しているが、大量の肝切除は肝不全死などの合併症を引き起こし、在院死の主因となっている。門脈塞栓術（PE）は大量の肝切除が予定される場合に、術後の肝不全予防を目的として広く臨床の場において施行されている。PE は切除予定の肝葉に流入する門脈の分枝を選択的に塞栓する手技で、PE 後 2・3 週間で塞栓肝が萎縮し、代償的に非塞栓肝が肥大することで肝切除後の肝不全のリスクが低下することが知られている。しかし PE に関するこれまでの解析は機能的、形態的な組織変化に留まり、非塞栓肝が肥大する分子機構はいまだ明らかとなっていない。本研究は主に細胞内における酸化還元バランスを司る転写因子として知られる Nrf2 に着目し、PE 後の非塞栓肝の肥大に Nrf2 の細胞増殖促進作用が関与すると仮説を立て、PE の代替モデルとしてマウスに門脈枝結紮術（PBL）を施行することで、非結紮葉の肥大における Nrf2 の役割を明らかとした。実際には Nrf2 欠失（Nrf2-KO）マウス、Nrf2 が活性化した肝臓特異的 Keap1 欠失（Keap1-CKO）マウス、および野生型マウスとそれぞれ Nrf2 の活性化状態が異なる 3 種のマウスを利用し、Keap1-CKO マウスで著明に非結紮葉が肥大することを示した。また細胞増殖マーカーである Ki67 の免疫染色や遺伝子発現から、Nrf2 の活性化が非結紮葉の細胞増殖に有利に働くことを証明した。さらに Nrf2 誘導剤である CDDO-Im を投与することによって、野生型マウスの PBL 群では、CDDO-Im により非結紮葉の肥大が有意に促進し、Nrf2-KO マウスでは、CDDO-Im の効果が消失することを示し、CDDO-Im が Nrf2 依存的に非結紮葉の肥大を促進することを強く証明した。本研究は、Nrf2 の活性化が PBL 後の非結紮葉の代償的肝肥大を促進することを明らかとし、PE の効果を増強する目的で Nrf2 誘導剤を使用することで、肝切除後の合併症の減少や、肝切除術の適応範囲の拡大の新たな可能性を示した。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。